

Aus der Medizinischen Poliklinik der Universität
Marburg/Lahn

K. Direktor: Professor Dr. med. H. Kaffarnik

TIEREXPERIMENTELLE UNTERSUCHUNG DES
FETTSÄUREMUSTERS IM PLASMA UND
IN DER LEBER UNTER ÄTHANOLBELASTUNG
NACH MARKIERUNG MIT LINOLENSÄURE

INAUGURAL-DISSERTATION

zur

Erlangung des Doktorgrades der gesamten Medizin

dem Fachbereich Humanmedizin der

Philipps-Universität Marburg

vorgelegt von

HANS-HERBERT ECHTERHOFF

aus Bielefeld/Westfalen

Marburg 1978

Druck: Görich & Weiershäuser, Marburg

Aus der Medizinischen Poliklinik der Universität
Marburg/Lahn
K. Direktor: Professor Dr. med. H. Kaffarnik

TIEREXPERIMENTELLE UNTERSUCHUNG DES
FETTSÄUREMUSTERS IM PLASMA UND
IN DER LEBER UNTER ÄTHANOLBELASTUNG
NACH MARKIERUNG MIT LINOLENSÄURE

INAUGURAL-DISSERTATION

zur

Erlangung des Doktorgrades der gesamten Medizin

dem Fachbereich Humanmedizin der
Philipps-Universität Marburg
vorgelegt von

HANS-HERBERT ECHTERHOFF

aus Bielefeld/Westfalen

Marburg 1978

Druck: Görich & Weiershäuser, Marburg



Angenommen vom Fachbereich Humanmedizin
der Universität Marburg am 24.11.1978
gedruckt mit der Genehmigung des Fachbereichs
Dekan: Prof. Dr. med. F. Neurath
Referent: Priv. Doz. Dr. med. R. Schubotz
Correferent: Prof. Dr. med. H. Kaffarnik

Meinen Eltern

Inhaltsübersicht

I E I N L E I T U N G

II M E T H O D I K

1. Versuchsaufbau

1. 1. Versuchstiere und deren Vorbereitung
vor dem Versuch
1. 2. Versuchsanordnung

2. Versuchsablauf

2. 1. Gabe von Alkohol
2. 2. Gabe von Nikotinsäure
2. 3. Zeitpunkt der Blutprobengewinnung, Leber-
und Fettgewebsentnahme

3. Serum, Leber- und Fettgewerbsverarbeitung

3. 1. Extraktion und Trennung der Lipide
3. 2. Dünnschichtchromatographische Trennung der
Lipide
3. 3. Umesterung der Lipoide und Herstellung der
Fettsäuremethylester
3. 4. Gaschromatographische Analyse der Fettsäure-
methylester

III S T A T I S T I K

1. Mittelwert-Berechnung
2. Mann-Whitney-Test
3. T-Test nach Student

IV E R G E B N I S S E

1. Vergleich des Fettsäuremusters in Leber, Serum und
Fettgewebe von normal- und mit linolensäurehaltiger
Diät ernährten Tiere.
2. Veränderungen der Mittelwerte der Fettsäuren im Plasma und
der Leber jeder Gruppe zu verschiedenen Zeitpunkten

2. 1. Gruppe Serum/Alkohol
2. 2. Gruppe Serum/Alkohol und Nikotinsäure
2. 3. Gruppe Leber/Alkohol
2. 4. Gruppe Leber/Alkohol und Nikotinsäure

3. Änderung der Linolensäure (C 18:3) gegenüber dem Nullwert in Prozent nach 1, 2, 5 und 7 Stunden unter Alkohol und Alkohol/NS-Wirkung

4. Tabellen

V DISKUSSION

VI ZUSAMMENFASSUNG

VII LITERATURVERZEICHNIS

I E I N L E I T U N G

Über die Beziehungen zwischen Äthanolaufnahme und Serumlipiden sowie der Pathogenese der Alkoholfettleber liegen bereits zahlreiche Untersuchungen vor. Umstritten ist dabei nach wie vor der Ursprung der Fettsäuren für die nach Alkohol gesteigerte Triglyceridsynthese.

Diskutiert werden:

1. Hemmung der Fettsäureoxydation (4, 29) bei gleichzeitiger Stimulierung der Fettsäuresynthese (19, 29)
2. eine gesteigerte Fettsäuremobilisation von Fettsäuren aus dem peripheren Fettgewebe (5, 6, 14, 17, 3, 31).

Als weitere mögliche Quelle der für die Triglyceridsynthese erforderlichen Fettsäuren stellen Lieber und Mitarbeiter (23) die Bedeutung des Nahrungsfettes heraus. Aufschluß über den Ursprung der für die Triglyceridsynthese notwendigen Fettsäuren kann man vor allen Dingen durch Untersuchungen erlangen, bei denen gleichzeitig peripheres Fettgewebe, Serumlipide und Lebertriglyceride untersucht werden können.

Wegen der Notwendigkeit, das menschliche Fettgewebe über einen längeren Zeitraum zu markieren und durch die Belastungen der erforderlichen Biopsien zur Leber und Fettgewebsgewinnung ist dieses praktisch nur im Tierversuch möglich.

Ein unterschiedliches Fettsäuremuster in den Serumlipiden, im Depotfett und den Lebertriglyceriden kann durch Markierung der Fettsäuren durch eine spezielle Ernährung der Tiere über einen längeren Zeitraum vor dem Versuch erzielt werden. Das soll in dieser folgenden Untersuchung durchgeführt werden.

II METHODIK

1. Versuchsaufbau:

1. 1. Versuchstiere und deren Vorbereitung vor dem Versuch

66 weibliche Ratten vom Stamm WISTAL wurden ein Vierteljahr lang mit einer Zucht-Diät der Fa. Altronim/Lage in Westfalen gefüttert. Die Zuchtdiät war eine Sondermischung mit einem Zusatz von 20 % Leinöl, das einen hohen Anteil der für Ratten essentiellen Fettsäuren Lino1- und Linolensäure enthält (vgl. Tab. 1)

Zusammensetzung des Leinöls

Myristinsäure	(C 14:0)	0,2 %
Palmitinsäure	(C 16:0)	5,6 %
Stearinsäure	(C 18:0)	3,5 %
Ölsäure	(C 18:1)	21,0 %
Linolsäure	(C 18:2)	24,0 %
Linolensäure	(C 18:3)	45,0 %

<u>Abkürzungen:</u>	Grp. A:	Alkohol-Gruppe
	Grp. A/NS:	Alkohol, Nikotinsäure-Gruppe
	FSME:	Fettsäuremethylester
	FFS:	Freie Fettsäuren

1. 2. Versuchsanordnung

Zwei verschiedene Versuchsgruppen wurden durchgeführt.
Dazu wurden die 66 Ratten in 2 Hauptgruppen aufgeteilt.

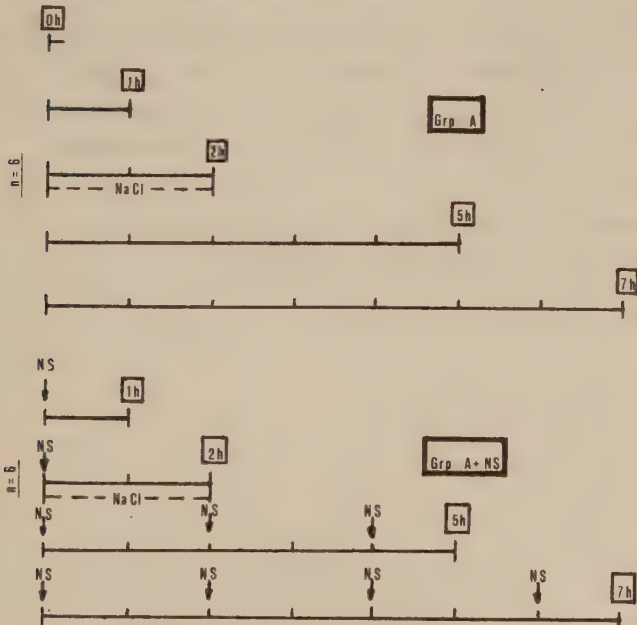
- Gruppe A : Alkohol-Grp.
- Gruppe A/NS: Alkohol/NS-Grp.

Entsprechend dem Zeitpunkt der Blutprobengewinnung wurden die beiden Hauptgruppen in Untergruppen zu je 6 Tieren aufgeteilt.

Die Ausgangswerte der Gruppe 0 wurden für beide Gruppen verwendet.

Die Untergruppen Grp. A₂ und Grp. A/NS₂ bekamen anstatt des Alkohols Kochsalz und dienten als Kontrollgruppen.

Schema der Versuchsanordnung:



2. Versuchsablauf

2. 1. Gabe von Alkohol:

Jedes der durchschnittlich 250 gr. schweren Tiere erhielt über eine Knopfkanüle peroral 6 g/kg Äthanol (50 %).

2. 2. Gabe von Nikotinsäure:

Allen Tieren der Grp. A/NS wurde zum Zeitpunkt Null 200 mg/kg Nikotinsäure intraperitoneal appliziert.

Entsprechend der Einteilung der Untergruppen wurde die Gabe zu den Zeitpunkten 2 Std.-4 Std.-6 Std. wiederholt.

2. 3. Zeitpunkte der Blutprobengewinnung, Leber- und Fettgewebsentnahme:

Zu den Zeitpunkten 0 Std.-1 Std.-2 Std.-5 Std.-7 Std. wurden die Tiere mit 50 mg/ml Nembutal (Pentobarbital-Natrium) betäubt, durch Herzpunktion Blut gewonnen und je ein ungefähr 300 mg schweres Leber- und Fettgewebsstück entnommen.

Die Blutproben wurden 5 min bei 400 U/min zentrifugiert und das Blutplasma, die Leber- und Fettgewebsproben bei minus 60° C bis zur Aufarbeitung eingefroren.

3. Serum-, Leber- und Fettgewebsverarbeitung

3. 1. Extraktion und Trennung der Lipide

Die Extraktion der Lipide aus dem Serum oder homogenisiertem Gewebe erfolgte mit einem Chloroform-Methanol-Gemisch 2:1 (V/V) nach FOLCH et al (10).

Die lipoidchemische Aufarbeitung von Gewebeproben im Mikromengenbereich zur Gewinnung der Fettsäuremethylester wurde nach der von EBERHAGEN (8) beschriebenen Methode mit der dazugehörigen apparativen Ausrüstung durchgeführt.

Zur Ausschaltung von Störeffekten durch angereicherte Verunreinigungen aus Lösungsmitteln und Reagentien wurden alle Glasteile in Chromschwefelsäure gereinigt.

Um oxidative Veränderungen der nach Zentrifugation in der Chloroformphase gelösten Lipide durch Luftsauerstoff (Autoxidation) zu vermeiden, mußten Verdampfungsvorgänge mit dem Rotationsverdampfer unter Schutzgasatmosphäre (N_2) durchgeführt und eine Erwärmung über $40^{\circ}C$ vermieden werden.

3. 2. Dünnschichtchromatographische Trennung der Lipide

Zur Auftrennung der Plasmalipide wurde die von Zöllner und Mitarbeitern (1962) entwickelte Dünnschichtchromatographie verwendet.

Auf sorgfältig gereinigte Glasplatten 20 x 20 cm wurde mit Hilfe eines Streichgerätes Kieselgel-G nach STAHL (35) mit einer Schichtdicke von 0,5 cm aufgetragen, an der Luft getrocknet und anschließend eine Stunde bei 120° C aktiviert.

Circa 40 µl Chloroformphase mit den gelösten Lipiden wurden mit einer Mikropipette auf die beschichteten Platten aufgetragen. Als Fließmittel diente Petroläther-Diäthyläther-Eisessig 80:20:1 (V/V). Die Lipide wurden in folgenden Fraktionen getrennt:

Phosphatide-Cholesterin-Freie Fettsäuren-Triglyceride-Cholesterinester.

Als Nachweisreagenz diente die 0,2 %ige äthanolische Lösung von 2,7'-Dichlorfluorescein, wodurch die Lipidbanden im UV-Licht (270 mµ) als hellgrüne Flecken erkennbar waren. (Mangold, 1967)

3. 3. Umesterung der Lipide und Herstellung der Fettsäuremethylester (FSME)

Da die gaschromatographische Trennung der Fettsäuremethylester (FSME) bessere Ergebnisse bringt, als die der Fettsäuren (FS), hat sich die Veresterung der FS zu Methylestern (FSME) zur Analyse durchgesetzt.

Die Herstellung der FSME geschieht durch Säuren - oder alkali-katalytische Umesterung unter Verwendung methanolischer Salzsäure oder Natriummethylat in Methanol.

Für die hier beschriebene Untersuchung kam ein Verfahren nach EBERHAGEN (1963) zur Anwendung:

Die im UV-Licht sichtbaren und durch Vergleichssubstanzen identifizierten Lipidbanden wurden mit dem Kieselgel abgeschabt und mit 0,5 %iger methanolischer HCl 1 h lang im Mikrorückflußkühler bei 80° C gekocht.

Nach dreifacher Extraktion mit Petroläther und erneuter dünnschichtchromatographischer Trennung von Nebenprodukten konnten die FSME nach Eindampfen am Rotationsverdampfer unter Stickstoffschutz mit einer Mikroliterspritze in den Gaschromatographen zur Analyse eingegeben werden.

Bei den Untersuchungen an den Rattenlebergewebsstückchen wurden die von Oette und Doss (1968) beschriebene Mikromethode zur schnellen Umesterung von Lipoiden auf Dünnschichtplatten mit Natriummethylat angewendet.

3. 4. Gaschromatographische Analyse der FSME

PARAMETER:

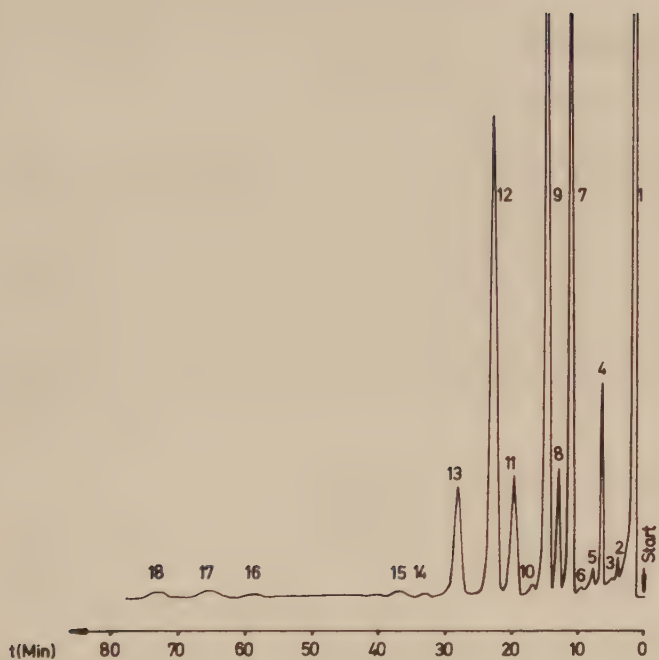
<u>Gerät:</u>	Becker-Packard, Modell 419 Zweiflammenionisationsdetektor
<u>Säule:</u>	Stahl, 3 m x 1/8 Inch oder Glas 3 m x 1/4 Inch gefüllt mit 10 % EGSS (Äthylen-glycol- Succinat-methyl-silicon) auf Gaschrom P 125 - 150 mesh.
<u>Temperaturen:</u>	Säule 180° C, Isotherm, Einspritzblock 240° C Detektor 250° C
<u>Trärgas:</u>	Argon 40 ml/Min.
<u>Brenngase:</u>	Wasserstoff 30 ml/Min Luft 300 ml/Min

Die Identifizierung der Banden erfolgte durch Ermittlung der Kohlenstoffzahl (Woodfort et al, 1981) und Berechnung der Trennfaktoren (Haken, 1981, Janieson 1981).

Als Vergleichsstandard dienten Methylester der Fa. Serra, Heidelberg.

Die quantitative Auswertung erfolgte mit einem Integrator Hewlett Packard Modell 3380 A.

Die ermittelten Werte werden als Flächenprozent angegeben.



Gaschromatogramm von Triglyceriden - Fettsäuremethylestern
mit C 17:0 (Peaknummer 9) als internem Standard.

III STATISTIK

1. Bestimmung der Mittelwerte der rel. Anteile (Flächenpro- zente) der einzelnen FS jeder Gruppe:

$$(\text{Serum/Alk} | \text{Leber/Alk} : \text{Serum/Alk} + \text{NS} | \text{Leber Alk} + \text{NS})$$

Zu den Zeitpunkten 0h, 1h, 2h, 5h, 7h

Der Mittelwert berechnet sich aus der Formel

$$\bar{X} = \frac{\sum_{i=1}^n x_i}{n}$$

Die Standardabweichung wurde auch errechnet, blieb jedoch bei der Interpretation der Ergebnisse unberücksichtigt.

2. Mann-Whitney-Test:

Die unter a errechneten Mittelwerte wurden untereinander verglichen.

Die einzelnen FS der

1.: Grp. Alkohol mit Alk/NS in Serum + Leber zu den unter a erwähnten Zeitpunkten

2.: Vergleich Leber/Serum der Alk-Grp.

3.: Vergleich Leber/Serum der Alk + NS/Grp.

Dazu wurde der Mann-Whitney-Test herangezogen.

Der Mann-Whitney-Test dient zum Vergleich zweier unabhängiger Stichproben, die nicht aus normal verteilten Grundgesamtheiten zu stammen brauchen. Man versieht die beiden Stichproben mit einer gemeinsamen Rangreihe, wobei bei gleichen Werten gemeinsame Rangplätze vergeben werden. In beiden Stichproben werden die Summen der Rangplätze gebildet, die kleinere der beiden Rangsummen sei T. Ferner seien N_1 und N_2 die Anzahlen der Werte in den beiden Gruppen. Die Gesamtzahl der Werte ist demnach $N = N_1 + N_2$. Hieraus be-

stimmt man folgende Briefgröße

$$T' = N_1 (N + 1) - T$$

Zu dieser Prüfgröße T läßt sich das gesuchte Signifikants-Niveau α in eindeutiger Weise bestimmen.

Ein signifikanter Unterschied liegt vor, falls $\alpha \leq 5\%$ ist.

3. T-Test nach Student

Bestimmung der Mittelwerte der rel. Anteile der einzelnen FS jeder Gruppe

(Normalfutter - Linolenhaltige Kost)

Zur statistischen Berechnung zum Vergleich dieser Mittelwerte diene der T-Test nach STUDENT.

Es wird der Ausdruck

$$t = \frac{\bar{x}_1 - \bar{x}_2}{\sqrt{\frac{s_1^2 + s_2^2}{2}}}$$

berechnet. Dabei bedeuten:

$\bar{x}_1, \bar{x}_2$ Mittelwerte in beiden Gruppen

s_1, s_2 Streuungen in beiden Gruppen

Von signifikanten Unterschieden kann man sprechen, wenn die Irrtumswahrscheinlichkeit $\alpha \leq 5\%$ ist.

PS: Für die statistische Auswertung der Ergebnisse danke ich Herrn P. Zöfel vom Rechenzentrum der Philipps-Universität Marburg.

IV E R G E B N I S S E

1. Vergleich des Fettsäuremusters in Leber, Serum und Fettgewebe von normal- und mit linolenhaltiger Diät ernährten Tieren

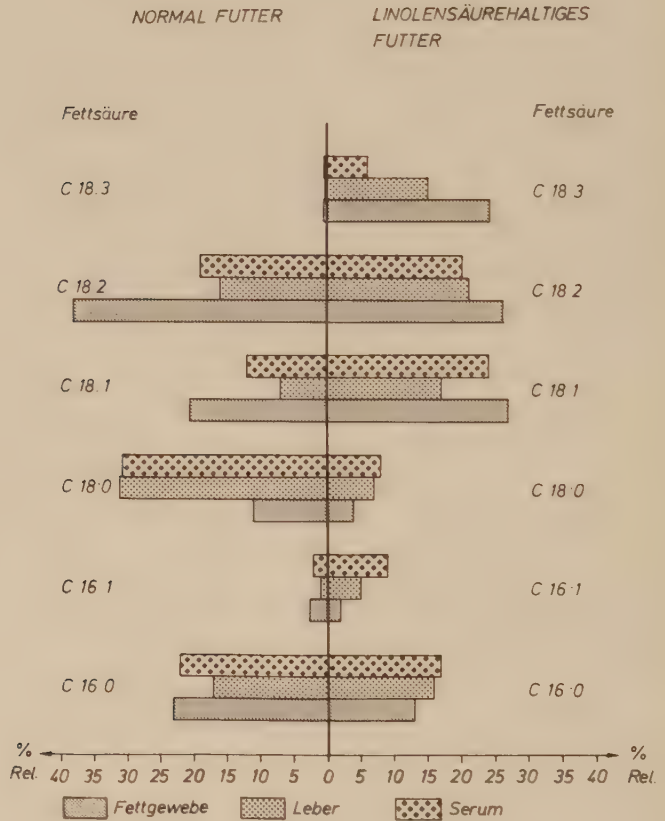


ABB 1

Die Linolensäure (C 18:3) nimmt im FS-Muster der mit dem Leinölzusatz ernährten Tiere ansteigend vom Serumwert (6,5 %) über den Leberwert (15 %) zum Fettgewebswert (24,5 %) zu, währenddessen die Linolensäure bei normalernährten Tieren verschwindend klein ist. (Serum 0,5 %, Leberwert 0,3 %, Fettgewebswert 0,7 %).

Nur bei der Linolensäure bestehen markante Unterschiede zwischen Serum-, Leber- und Fettgewebe in prozentualen Anteil.

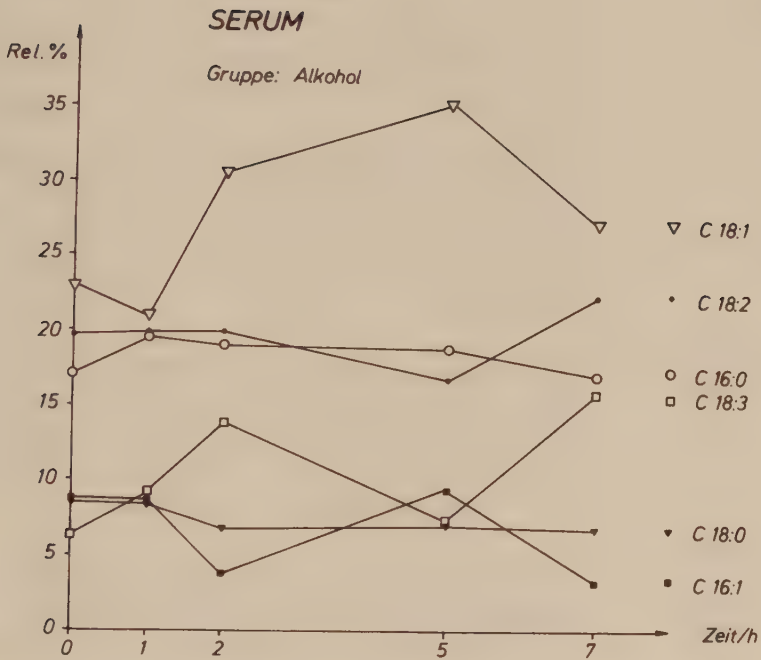


ABB 2

Veränderungen der Mittelwerte der einzelnen Fettsäuren
im Serum der Gruppe Alkohol zu verschiedenen Zeitpunkten
in Rel. %

2. Veränderungen der Mittelwerte der Fettsäuren im Serum
jeder Gruppe zu verschiedenen Zeitpunkten in Rel. %

2. 1. Grp. Serum/Alkohol: (Abb. 2)

- C 16:0 : stieg von 16.975 auf 19.568 nach 60 min.,
auf 18.925 nach 2 Std. (NaCl 18.973) und
fiel dann über 18.907 nach 5 Std. auf 17.118
nach 7 Std. ab.
- C 16:1 : fiel nach 1 Std. von 9.422 auf 8.585 gering-
fügig ab. Beim 2 Std.-Wert fiel der Wert
weiter auf 3.835 (NaCl 4.270) ab, nahm bis
zur 5 Stunde bis 9.422 zu und fiel nach 7
Std. weiter bis 3.210 ab.
- C 18:0 : nach 1 Std. war der Wert minimal von 8.467
auf 8.470 angestiegen, fiel dann nach 2
Std. auf 6.765 (NaCl 5.676) ab und erfuhr
nur geringfügige Schwankungen beim 5 Std.-
Wert 7.108 und beim 7 Std.-Wert 6.820.
- C 18:1 : der Wert fiel nach 1 Std. von 22.993 auf
20.936 ab, stieg dann von 30.629 (NaCl
31.432) nach 2 Std. auf 35.268 an, um dann
nach 7 Std. auf 27.513 abzufallen.
- C 18:2 : geringfügiger Anstieg von 19.075 auf 19.878
nach 1 Std. und 19.967 (NaCl 24.228) nach 2
Std. Dann fiel der Wert nach 5 Std. auf
16.828 ab und stieg nach 7 Std. wieder auf
22.357 an.
- C 18:3 : nach 1 Std. Anstieg von 6.201 auf 9.335.
Weiterer Anstieg nach 2 Std. auf 13.797
(NaCl 8.858). Dann fiel der Wert nach 5 Std.
auf 7.310^{ab} und stieg nach 7 Std. auf 15.093 an.

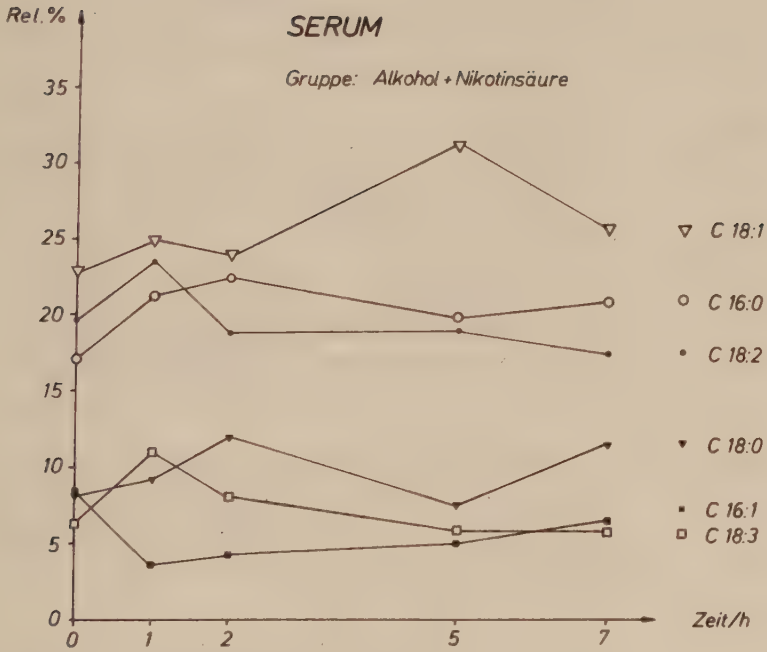


Abb. 3

Veränderungen der Mittelwerte der einzelnen Fettsäuren
im Serum der Grp. Alkohol + Nikotinsäure zu verschiedenen
Zeitpunkten in Rel. %.

2. 2. Gruppe_Serum/Alkohol+_NS (Abb. 3)

- C 16:0 : Anstieg von 16.975 auf 21.280 nach 1 Std.,
nach 2 Std. auf 22.515 (NaCl 24.697), dann
fiel der Wert über 19.795 nach 5 Std. auf
21.062 nach 7 Std. ab.
- C 16:1 : nahm nach 1 Std. von 8.615 auf 3.513 ab.
Dann stieg der Wert von 4.163 (NaCl 5.962)
nach 2 Std. auf 5.025 nach 5 Std. und 6.460
nach 7 Std. an.
- C 18:0 : stieg nach 1 Std. von 8.467 auf 9.188 an;
nach 2 Std. auf 12.067 (NaCl 9.528). Dann
Abfall auf 7.483 nach 5 Std. und Anstieg
auf 11.714 nach 7 Std.
- C 18:1 : stieg nach 1 Std. von 22.993 auf 24.897 an,
fiel nach 2 Std. auf 24.050 (NaCl 24.538)
ab, stieg wieder auf 31.422 nach 5 Std. an
und fiel dann auf 25.756 nach 7 Std. ab.
- C 18:2 : nahm von 19.705 nach 1 Std. auf 23.050 zu,
nach 2 Std. auf 18.907 (NaCl 22.337) ab und
fiel weiter nach 5 Std. auf 19.040 und nach
7 Std. auf 17.548 ab.
- C 18:3 : Anstieg von 6.201 auf 11.043 nach 1 Std.
Dann fiel der Wert auf 8.012 (NaCl 7.788)
ab, nach 5 Std. auf 5.902 und nach 7 Std.
auf 5.836 ab.

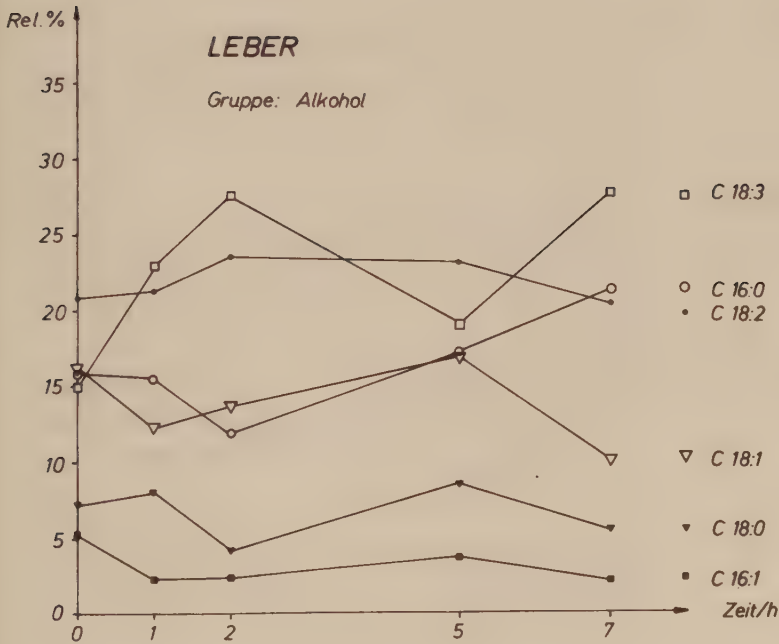


Abb. 4

Veränderungen der Mittelwerte der einzelnen Fettsäuren
in der Leber der Grp. Alkohol zu verschiedenen Zeitpunkten
in Rel. %.

2. 3. Grp. Leber/Alkohol: (Abb. 4)

- C 16:0 : fiel nach 1 Std. von 15.892 auf 15.637 ab,
nach 2 Std. auf 11.748 ab (NaCl 17.475) und
stieg nach 5 Std. auf 17.363 und nach 7 Std.
auf 21.397 an.
- C 16:1 : Anstieg nach 1 Std. von 2.297 auf 2.413.
Der 2 Std.-Wert war auch 2.413 (NaCl 2.408),
dann Anstieg auf 3.665 nach 5 Std. und Ab-
fall auf 2.198 nach 7 Std.
- C 18:0 : stieg von 7.325 auf 7.950 nach 1 Std., fiel
nach 2 Std. auf 4.220 (NaCl 7.700) ab und
stieg wiederum nach 5 Std. auf 8.482 an, um
nach 7 Std. wieder auf 5.477 abzufallen.
- C 18:1 : fiel von 16.033 nach 1 Std. auf 12.332 ab,
stieg nach 2 Std. auf 13.903 an (NaCl 7.192),
nach 5 Std. auf 16.793, und fiel nach 7 Std.
auf 10.122 ab.
- C 18:2 : stieg von 20.798 auf 21.392 nach 1 Std. an,
nach 2 Std. auf 23.475 (NaCl 28.453), fiel
dann geringfügig auf 23.273 nach 5 Std. ab
und nach 7 Std. auf 20.468.
- C 18:3 : stieg nach 1 Std. von 14.947 auf 22.892 an,
nach 2 Std. auf 27.573 (NaCl 18.747), fiel
dann 5 Std. auf 19.162 ab und stieg dann
nach 7 Std. auf 27.910 an.

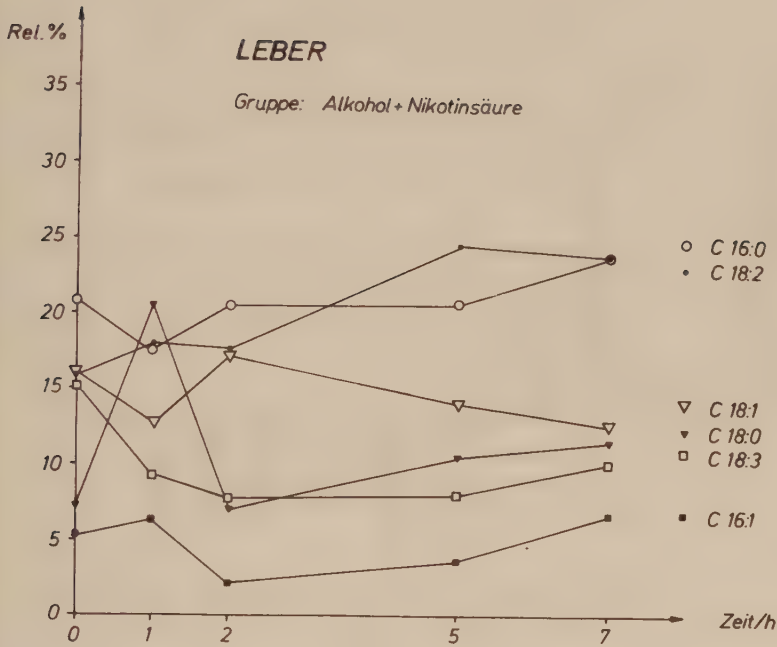


Abb. 5

Veränderungen der Mittelwerte der einzelnen Fettsäuren
in der Leber der Grp. Alkohol + Nikotinsäure zu verschie-
denen Zeitpunkten in Rel. %.

2. 4. Grp. Leber/Alkohol+_NS (Abb. 5)

- C 16:0 : stieg nach 1 Std. von 15.892 auf 18.077 an,
fiel nach 2 Std. auf 17.807 ab (NaCl 19.305),
stieg nach 5 Std. auf 24.527 an und fiel
nach 7 Std. auf 23.858 ab.
- C 16:1 : Anstieg von 5.227 auf 6.298 nach 1 Std.,
fiel dann auf 2.127 nach 2 Std. ab (NaCl
2.817), stieg nach 5 Std. auf 3.595 und nach
7 Std. auf 6.550 an.
- C 18:0 : stieg von 7.325 nach 1 Std. auf 20.543, fiel
nach 2 Std. auf 7.102 (NaCl 11.367) und
stieg nach 5 Std. auf 10.423 und nach 7
Std. auf 11.534 an.
- C 18:1 : fiel von 16.033 nach 1 Std. auf 12.720,
stieg nach 2 Std. auf 17.272 (NaCl 13.997)
und fiel nach 5 Std. auf 14.140 und nach 7
Std. auf 13.528 ab.
- C 18:2 : fiel nach 1 Std. von 20.798 auf 17.470 ab,
stieg auf 20.557 nach 2 Std. an (NaCl 11.078),
nach 5 Std. auf 20.605 und nach 7 Std. auf
23.980 an.
- C 18:3 : fiel nach 1 Std. von 14.947 auf 9.157 ab,
nach 2 Std. auf 7.668 (NaCl 2.855), stieg
dann nach 5 Std. auf 7.923 und nach 7 Std.
auf 10.132 an.

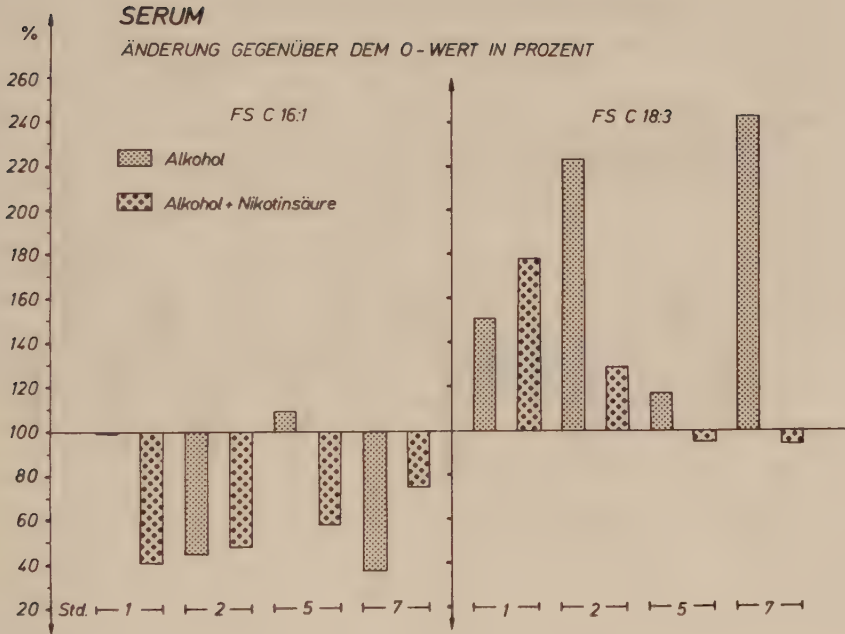


Abb. 6

Änderung der Mittelwerte der Palmitoleinsäure (C 16:1) und der Linolensäure (C 18:3) der Alkohol-Grp. und Alkohol/NS-Grp. im Serum gegenüber dem Nullwert in Prozent zu verschiedenen Zeitpunkten.

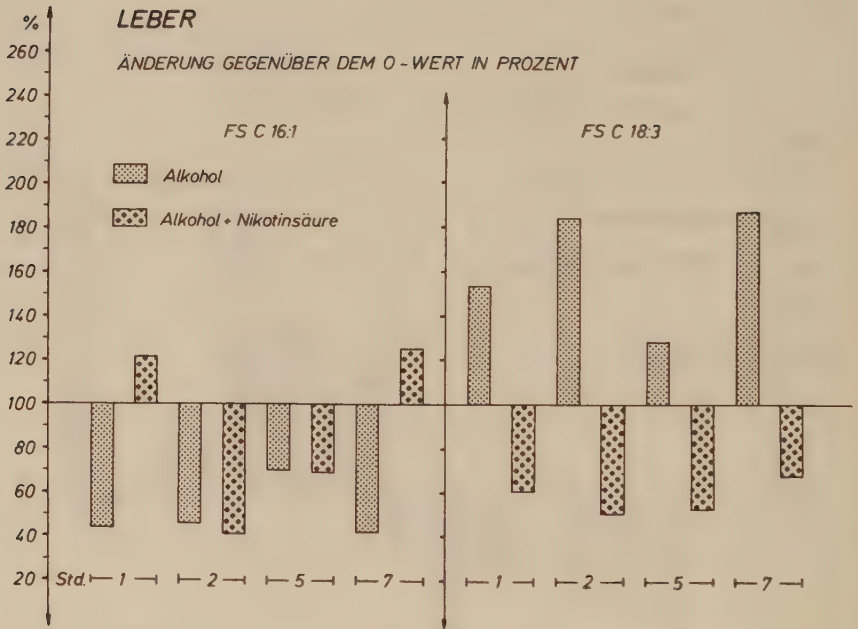


Abb. 7

Änderung der Mittelwerte der Palmitoleinsäure (C 16:1) und der Linolensäure (C 18:3) der Alkohol-Grp. und Alkohol/NS-Grp. in der Leber gegenüber dem Nullwert in Prozent zu verschiedenen Zeitpunkten.

3. Änderung der Linolensäure (C 18:3) in Leber und Serum gegenüber dem Nullwert in Prozent nach 1, 2, 5 und 7 Std. unter Alkohol und Alkohol/NS-Wirkung. (siehe Abb. 6 + 7)

A Serum: Anstieg der Linolensäure unter Alkoholwirkung von 150,54 % nach 1 Std. bis auf 243,40 % nach 7 Std.

Unter der zusätzlichen Blockierung mit Nikotinsäure ist der 5-Std. und 7-Std.-Wert gegenüber dem Ausgangswert erniedrigt.

B Leber: In der Alkohol-Grp. steigt die Linolensäure von 153,15 % auf 186,73 % nach 7 Std. an.

Unter Nikotinsäurewirkung fällt (18:3) zu allen Zeitpunkten gegenüber dem Ausgangswert deutlich ab.

4. Tabellen

Tab. 1

FS	Fettgewebe O-Wert NORMAL FUTTER		T-TEST	Fettgewebe O-Wert DIÄT	
	XQ	SE		XQ	SE
14:0	1,557	0.561	1.397	1.210	0.235
14:2	0.663	0.871	1.758	0.038	0.013
16:0	23.058	2.152	xxxx 11.048	13.058	0.535
16:1	2.587	0.795	xx 1.994	1.802	0.546
18:0	10.857	3.325	xxxx 4.705	4.352	0.645
18:1	20.498	3.137	xxxx 4.734	26.732	0.748
18:2	37.838	3.746	xxxx 7.451	26.032	1.015
18:3	0.687	0.590	xxxx 25.541	24.532	2.210
20:0	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
20:1	0.962	0.767	xxx 3.071	0.000	0.000
20:4 _{n-9}	1.217	1.388	1.325	0.465	0.077
22:4 _{n-9}	0.000	0.000	xxx 3.326	0.202	0.149
* $\alpha \leq 5$ ** $\alpha \leq 0,1$ *** $\alpha \leq 0.001$					

Vergleich des FS-Musters im Fettgewebe normal- und mit linolen-säurehaltiger Diät ernährter Tiere.

Tab. 2

FS	Serum - O-Wert NORMALFUTTER		T-Test	Serum Alk./NS-O-Wert DIÄT	
	XQ	SE		XQ	SE
14:0	0.409	0.510	*** 3.598	2.349	4.012
16:0	4.769	22.103	* 2.551	1.227	16.975
16:1	3.444	2.318	*** 3.033	3.743	8.743
18:0	3.753	30.668	**** 12.304	2.335	8.467
18:1	3.707	11.935	**** 6.949	2.211	24.178
18:2	2.866	18.885	0.609	3.174	19.948
18:3	0.491	0.490	**** 8.520	1.651	6.482
20:4 _{n-9}	0.000	0.000	1.650	3.313	2.232
22:4 _{n-9}	2.979	13.090	* 2.563	3.341	8.408
* $\alpha \leq 5$ ** $\alpha \leq 0,1$ **** $\alpha \leq 0,001$					

Vergleich des FS-Musters im Serum normal- und mit linolen-
säurehaltiger Diät ernährter Tiere.

Tab. 3

FS	Leber - O-Wert NORMALFUTTER		T-TEST	Leber Alk/NS-O-Wert DIÄT	
	XQ	SE		XQ	SE
14:0	0.252	0.310	1.134	2.713	1.572
14:2	0.086	0.108	*** 3.017	1.316	1.733
16:0	2.853	17.098	0.337	8.287	15.892
16:1	0.373	1.260	** 2.211	4.380	5.227
18:0	1.228	31.278	**** 14.618	3.821	7.325
18:1	1.379	7.427	** 1.962	10.654	16.033
18:2	2.189	16.230	0.903	12.203	20.798
18:3	0.096	0.258	** 2.168	16.598	14.947
20:0	0.137	0.107	0.986	19.057	7.780
20:1	0.200	0.175	** 2.146	0.000	0.000
20:4 _{n-9}	6.104	25.340	**** 7.790	3.810	2.455
22:4 _{n-9}	0.671	0.402	1.421	7.101	4.540
* $\alpha \leq 5$ ** $\alpha \leq 0,1$ *** $\alpha \leq 0,001$					

Vergleich des FS-Musters in der Leber normal- und mit linolen-
säurehaltiger Diät ernährter Tiere

VERGLEICH SERUM Grp. ALKOHOL mit ALKOHOL + NS
gegenüber dem Nullwert

Std FS	0h	1h	2h	2h(NaCl)	5h	7h
C 14:0	100	93.72	81.82	48.48	9.31	42,86
C 16:0	100	48.48	81.82	13.20	81.82	1.73**
C 16:1	100	9.31	58.87	24.03	4.11**	3.03**
C 18:0	100	30.95	6.49	39.39	58.87	1.73**
C 18:1	100	6.49	39.39	69.91	69.91	66,23
C 18:2	100	9.31	93.72	69.91	17.97	5.19**
C 18:3	100	93.72	24.03	69.91	39.39	0,87***
C 20:2 _{n-9}	100	61.91	69.91	69.91	93.72	93.07
C 20:4 _{n-9}	100	1.52**	13.20	30.95	17.97	79.22
** $\alpha \leq 5$ *** $\alpha \leq 1$ **** $\alpha \leq 0,1$						

Tab. 4

VERGLEICH LEBER Grp. ALKOHOL mit ALKOHOL + NS

gegenüber dem Nullwert

Std FS	0h	1h	2h	2h(NaCl)	5h	7h
C 14:0	100	58.87	30.95	1.52 ^{**}	81.82	66.23
C 14:2	100	81.82	81.82	0.22 ^{***}	1.52 ^{**}	17.75
C 16:0	100	30.95	0.22 ^{***}	69.91	0.87 ^{***}	42.86
C 16:1	100	2.60 ^{**}	93.72	30.95	24.03	42.86
C 18:0	100	6.49	4.11 ^{**}	17.97	48.48	5.19 ^{**}
C 18:1	100	58.87	81.82	0.87 ^{***}	17.97	66.23
C 18:2	100	48.48	48.48	0.22 ^{***}	24.03	32.90
C 18:3	100	6.49	2.60 ^{**}	0.22 ^{***}	0.87 ^{***}	5.19 ^{**}
C 19:0	100	69.91	93.72	93.72	93.72	93.07
C 20:0	100	93.72	48.48	69.91	93.72	79.22
C 20:4 _{n-9}	100	93.72	24.03	0.22 ^{***}	81.82	66.23
C 22:4 _{n-9}	100	58.87	81.82	0.22 ^{***}	39.39	53.68
^{**} $\alpha \leq 5$ ^{***} $\alpha \leq 1$ ^{****} $\alpha \leq 0,1$						

Tab. 5

VERGLEICH LEBER/SERUM /ALKOHOL-GRP.

Std fs	0h	1h	2h	2h(NaCl)	5h	7h
C 14:0	13.20	4.11**	0.43***	0.22***	81.82	0.22***
C 14:2	—	—	—	—	—	—
C 16:0	69.91	17.97	0.87***	69.91	48.48	93.72
C 16:1	24.03	4.11**	24.03	6.49	2.60**	48.48
C 18:0	93.72	30.95	24.03	17.97	93.72	24.03
C 18:1	6.49	0.43***	2.60**	0,87***	0.43***	0.22***
C 18:2	69.91	24.03	30.95	30.95	6.49	93.72
C 18:3	93.72	6.49	6.49	0.43***	0.22***	6.49
C 20:0	—	—	—	—	—	—
C 20:1	93.72	93.72	93.72	93.72	93.72	93.72
C 20:4 n-9	2.60**	1.52**	93.72	0.22***	0.43***	1.52***
C 22:4 n-9						
** $\alpha \leq 5$ *** $\alpha \leq 1$						

Tab. 6

VERGLEICH LEBER-SERUM /ALKOHOL/NS-GRP.

FS \ Std	0h	1h	2h	2h(NaCl)	5h	7h
C 14:0	13.20	39.39	48.48	58.87	24.03	5.56
C 14:2	—	—	—	—	—	—
C 16:0	89.91	69.91	17.97	17.97	17.97	42.06
C 16:1	24.03	9.31	69.91	1.52 ^{**}	24.03	42.06
C 18:0	93.72	30.95	9.31	81.82	24.03	100.00
C 18:1	6.49	2.60 ^{**}	30.95	4.11 ^{**}	0.22 ^{***}	1.59 ^{**}
C 18:2	69.91	17.97	93.72	0.22 ^{**}	93.72	15.08
C 18:3	93.72	81.82	93.72	6.49	30.95	30.95
C 20:0	—	—	—	—	—	—
C 20:1	93.72	93.72	93.72	93.72	93.72	84.13
C 20:4 _{n-9}	2.60 ^{**}	93.72	48.48	39.39	24.03	22.22
C 22:4 _{n-9}	—	—	—	—	—	—
^{**} $\alpha \leq 5$ ^{***} $\alpha \leq 1$						

Tab. 7

V D I S K U S S I O N

In der Diskussion über die Pathogenese der äthanolinduzierten Hyperlipoproteinämie haben sich in den letzten Jahren zwei Schwerpunkte herauskristallisiert.

1. Die Drosselung der Fettsäureoxydation (4,29) bei gleichzeitiger Steigerung der Fettsäuresynthese (19,29).
2. Die alkoholbedingte gesteigerte Mobilisation von Fettsäuren aus dem peripheren Fettgewebe. Das entstehende Überangebot von Fettsäuren in der Leber führt zu einer Triglyceridsynthesesteigerung (5, 6, 14, 17, 3, 34, 31).

Die Lipolyse wird durch Katecholamine gesteigert. Untersuchungen ergaben, daß es nach akuter Zufuhr von Alkohol zu einer Ausschüttung von Adrenalin und Noradrenalin kommt. (1, 18, 30).

Durch Hypophysektomie, Adrenalektomie bzw. Behandlung mit einem β -Sympathicolyticum wurde dagegen eine stark reduzierte Triglycerideinlagerung in die Leber unter Alkoholeinwirkung beobachtet. (3, 9, 28).

Die Bedeutung des Depotfettes als Fettsäure-Quelle wurde auch durch die Untersuchungen von Horning und Mitarbeitern (14) unterstrichen, die eine Ähnlichkeit des Fettsäuremusters der Lebertriglyceride mit dem Fettsäuremuster des Depotfettes nach akuter Alkoholbelastung fanden.

Auch die Befunde von Bode und Goebell (5) sprechen für eine vermehrte periphere Lipolyse mit erhöhter Triglyceridsynthese in der Leber. Unter Alkohol und eiweißsamer Kost kam es bei Ratten trotz verminderter Fettsäuresynthese zur Leberverfettung.

Kaffarnik und Schneider (17) berichteten über die kurzfristige Wirkung des Äthylalkohols auf die Serumlipide bei

gesunden, fastenden Versuchspersonen. Auch sie kamen zu Ergebnissen, die die periphere Lipolyse wahrscheinlich machen. Eine weitere Studie von Lieber (22) zeigte, daß die Quelle und Menge der in den Lebertriglyceriden angesammelten Fettsäuren nach Alkoholgabe abhängig ist von der Dosis und Dauer der Alkoholgabe sowie vom Fettgehalt der zugeführten Nahrung. Zu ähnlichen Ergebnissen kam auch Shapiro (33) und Mallov (26).

Untersuchungen von Schubotz et al (34) zeigen, daß unter Nüchternbedingungen die für die Synthese der Triglyceride benötigten Fettsäuren bei fastenden Probanden überwiegend aus dem Depotfett des Körpers stammen. Unter Nahrungsaufnahme gewinnen die Nahrungsfette als Fettsäurequelle für die de-novo-Fettsäuresynthese der Leber Bedeutung.

Die vorliegende Untersuchung sollte Aufschluß über den Ursprung der Fettsäuren geben, die für die nach Äthanol gesteigerte Triglyceridsynthese notwendig sind.

Eine tierexperimentelle Arbeit mit Ratten bot den Vorteil, daß gleichzeitig peripheres Fettgewebe, Serumlipide und Lebertriglyceride untersucht werden konnten. Zur Erzielung eines unterschiedlichen Fettsäuremusters in den Serumlipiden, im Depotfett und den Lebertriglyceriden wurden die Ratten 1/4 Jahr mit einer linolenhaltigen Spezialdiät gefüttert. Anhand dieser Markierung, besonders mit der von den Ratten nicht selbst synthetisierten Linolensäure wurden die durch eine sehr hohe Dosis Alkohol induzierten Änderungen der Fettsäuremuster des Serums, Leber- und Fettgewebes mit und ohne Blockierung der peripheren Lipolyse gaschromatographisch untersucht.

Zur Blockierung der peripheren Lipolyse wurde den Tieren Nikotinsäure intraperitoneal injiziert. Die Wirkung der Nikotinsäure besteht darin, daß sie die Adenylcyclase der Fettzelle und damit die der Lipolyse hemmt. Das führt zu einer verminderten Produktion von $3,5^1$ -AMP, das im peri-

pereren Fettgewebe die Triglyceridsynthese aktiviert. (2, 7, 12).

Zur Interpretation der Serumlipid-, Lebertriglycerid- und Fettgewebsveränderungen nach Alkoholgabe mit und ohne Blockierung der peripheren Lipolyse kann nur die Linolensäure herangezogen werden, da nur bei dieser Fettsäure markante Unterschiede zwischen Serum- Leber- und Fettgewebe in prozentualem Anteil bestehen. (siehe Abb. 1, Tab. 1, 2, 3)

Die Linolensäure nimmt im Fettsäuremuster der mit dem Leinölzusatz ernährten Tiere ansteigend vom Serumwert (6,5 %) über den Leberwert (15 %) zum Fettgewebswert (24,5 %) zu, währenddessen die Linolensäure bei normal ernährten Tieren verschwindend klein ist. (Serum 0,5 %, Leberwert 0,3 %, Fettgewebswert 0,7 %). Beim Vergleich der Fettsäuremuster zwischen normal- und diät-ernährten Tieren fällt weiterhin auf, daß die Palmitoleinsäure (c 16:1) im Gegensatz zur Linolensäure (c 18:3) im Fettgewebe den geringsten Anteil und im Serum den größten Anteil hat. (Abb. 1) Beim Eintritt einer Lipolyse ist bei dieser Fettsäure mit einer relativen Abnahme im Serum zu rechnen. (Abb. 6, 7) Unter der akuten Gabe von Alkohol steigt die Linolensäure der Alkoholgruppe im Serum gegenüber dem Ausgangswert deutlich stärker an, als in der Alkohol- und Nikotinsäuregruppe. (Abb. 6, Tab. 4)

Bei der zusätzlichen Blockierung mit Nikotinsäure ist der 5-Std.- und der 7-Std.-Wert der Linolensäure gegenüber dem Ausgangswert erniedrigt, bei dem 7-Std.-Wert statistisch signifikant. (Abb. 6, Tab. 4)

Da Nikotinsäure die periphere Lipolyse hemmt, ist hiermit der Beweis angetreten, daß nach Gabe einer einmaligen Dosis Alkohol die für die gesteigerte Triglyceridsynthese notwendigen Fettsäuren durch Mobilisation der Fettsäuren aus dem peripheren Fettgewebe stammen.

Diese Behauptung wird durch den Vergleich des Fettsäuremusters der Lebertriglyceride gestützt. (Abb. 7, Tab. 5)

Die Linolensäure steigt in der Alkoholgruppe gegenüber dem Ausgangswert an und fällt unter Nikotinsäurewirkung ab. Die Unterschiede sind zu allen unterschiedlichen Zeitpunkten statistisch signifikant und deutlicher ausgeprägt als im Serum. Als Kontrollgruppe wurde einer Gruppe Tiere statt Alkohol Kochsalz über eine Magensonde gegeben. Auch unter diesen Bedingungen kommt es zu einem Anstieg von Linolensäure, der jedoch im Vergleich zu Alkohol geringer ist. Bei zusätzlicher Gabe von Nikotinsäure kommt es auch hier zu einem deutlichen Abfall der Linolensäure. Diese Wirkungen können durch den Streß der Kochsalz- und Nikotinsäuregabe und der damit verbundenen Katecholaminwirkung auf das lipolytische System erklärt werden.

Die Untersuchungen zeigen, daß bei der akuten Gabe von Äthanol die im Depotfett angereicherte Linolensäure zu einem höheren Prozentsatz in der Leber und im Serum nachgewiesen werden kann. Dieser Anstieg von Depotfettsäuren kann durch gleichzeitige Gabe von Nikotinsäure in der Leber völlig und im Serum weitgehend unterdrückt werden.

Die vorliegenden Ergebnisse stützen daher die Annahme, daß bei der akuten äthanolinduzierten Hyperlipidämie die für die Synthese der Triglyceride notwendigen Fettsäuren überwiegend aus dem peripheren Fettgewebe stammen.

VI ZUSAMMENFASSUNG

An 66 weiblichen Ratten, die ein Vierteljahr mit einer Spezialdiät gefüttert wurden, sollte die Wirkung einer akuten Äthanolbelastung auf das FS-Muster in den Serumlipiden, Lebertriglyceriden und im Depotfett mit und ohne Blockierung der peripheren Lipolyse mit Nikotinsäure gaschromatographisch geprüft werden.

Es ergaben sich folgende Ergebnisse:

1. Zur Interpretation der Serumlipid-, Lebertriglycerid- und Fettgewebsveränderungen nach Alkoholgabe kann nur die Linolensäure (C 18:3) herangezogen werden, da nur bei dieser Fettsäure Unterschiede im prozentualen Anteil in den Jeweiligen Fettsäuremustern bestehen.
2. Der Anteil der Linolensäure ist im FS-Muster der mit Leinölzusatz ernährten Tiere sowohl im Serum-, Leber- und Fettgewebe deutlich gegenüber normalernährten Tieren erhöht.
3. Nach der akuten Gabe von Alkohol steigt der Anteil der Linolensäure in der Alkohol-Gruppe gegenüber dem Ausgangswert im Serum deutlich und in den Lebertriglyceriden zu allen Zeitpunkten statistisch signifikant an. In der Alkohol/NS-Gruppe fällt der Wert unter der Nikotinsäurewirkung gegenüber dem Ausgangswert ab.
4. Die im Depotfett angereicherte Linolensäure konnte bei der akuten Alkoholgabe zu einem höheren Anteil im FS-Muster der Leber und des Serums nachgewiesen werden. Dieser Effekt war durch gleichzeitige Gabe von Nikotinsäure

in der Leber vollständig und im Serum weitgehend zu unterdrücken.

Daraus folgt, daß der Ursprung der für die Äthanolinduzierte gesteigerte Triglyceridsynthese notwendigen Fettsäuren überwiegend aus dem peripheren Fettgewebe stammen.

VII L I T E R A T U R V E R Z E I C H N I S

1. ABELIN, I. Herren, C., Berli. W.
Über die erregende Wirkung des Alkohols auf den Adrenalin-
und Naradrenalinhaushalt des menschlichen Organismus
Helv. med. Acta 25, 591 (1958)
2. BJÖRNTRUP, P.
Metabolism 14, 836 (1965)
3. BLOCH, J. L., MALLOV, S.
Role of hypophysis and adrenals in fatty infiltration of
liver resulting from acute ethanol intoxication
Amer. J. Physiol. 1956, 184, 29
4. BLOMSTRAND, R., Kager, L., Lantto, O.
Studies on the Ethanol-Induced Decrease of Fatty ACID
OXIDATION in Rat and Human Liver slices
Lifes Sciences 13, 131 (1973)
5. BODE, Ch., GOEBELL, H.
Zur Pathogenese der durch Alkohol induzierten Fetteinlage-
rung in die Leber
Klin. Wochenschrift, 1971, 22, 1201
6. BRODIE, B. B., and Maickel, R. P.
Role of sympathetic nervous system in drug induced fatty
livers
Ann. New York Acad. Sc. 104, 1049, 1963
7. CARLSON, L. A., Orö, L.
The Effect of Nicotinic Acid on the Plasma Free Fatty Acids
Demonstration of a Metabolic Type of Sympathicolysis
Acta med. scand. 172, 641 (1962)
8. EBERHAGEN, Dietrich
Mikroverfahren zur Gewinnung der Fettsäuremethylester aus
komplexen Lipoiden
Zeitschrift f. analyt. Chemie 212, 230 (1965)

9. ESTLER, C. I., Ammon, H. P. T.
The influence of beta-adrenergic blockade on the ethanol-induced derangement of lipid transport
Arch. Int. Pharmacodyn. 166, 333 (1967)
10. FOLCH, J., M. Lees, and D. H. Sloane - Standley
A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues
J. Biol. Chem. 226, 497 (1957)
11. FEIGL, J.
Neue Untersuchungen zur Chemie des Blutes bei akuter Alkoholintoxikation und bei chronischem Alkoholismus mit besonderer Berücksichtigung der Fette und Lipide.
Chemische Untersuchungen zur Kenntnis der Entwicklung und des Aufbaues von Lipämien
V. Biochem. Z. 92, 78 (1969)
12. FRÖBERG, S., Öro, L.
Acta med. scand. 174, 635 (1963)
13. HAKEN, I. K.
Retention time relationship in the gas chromatography of the methyl esters of fatty acids
J. Chromatogr. 23, 375 (1966)
14. HORNING, M. G., Williams, E. A., Maling, H. M., Brodie, B. B.
Depot fat as source of increased liver triglycerides after ethanol
Biochem. and Biophys. Research Communications 1960, 3, 635
15. ISSELBACHER, K. J.
Relations between ethanol and liver metabolism
Alkohol und Leber, Internationales Symposium, Freiburg i. Br.
16. JAMIESON, G. R., Reid, E. H.
The analysis of oils and fats by gas chromatography III. Separation factors of acetates alcohols and hydrocarbons
J. Chromatogr. 26, 8 (1967)

17. KAFFARNIK, H., Schneider, J.
Zur kurzfristigen Wirkung des Aethylalkohols auf die Serum-
lipide gesunder fastender Versuchspersonen
Z. ges. exp. Med. 152, 187, 1970
18. KLINGMAN, G. I., Goddal, Mc. C.
Urinary epinephrine and levarterenol excretion during acute
sublethal alcohol intoxication in dogs
J. Pharmacol. exp. Ther. 121, 313 (1957)
19. LIEBER, C. S., Schmid, R.
The effect of ethanol on fatty acid metabolism: stimulation
of hepatic fatty acid synthesis in vitro
J. clin. Invest. 40, 394 (1961)
20. LIEBER, C. S., and Davidson, C. S.
Some metabolic effects of ethyl alcohol
Amer. J. Med. 1962, 33, 319
21. LIEBER, C. S., and Spritz, N.
Ethanol induced fatty liver on fat free and fat containing
diets: role of dietary, adipose, and endogenously synthesized
fatty acids (abstract)
J. Clin. Invest. 1965, 44, 1069
22. LIEBER, C., S., Spritz, N., and Decarli, H.
Role of dietary, adipose, and endogenously synthesized
fatty acids in the pathogenesis of the alcoholic fatty liver
J. Clin. Invest. 1966, 45, 51
23. LIEBER, C. S., and Spritz, N.
Effects of prolonged ethanol intake in man. Role of dietary,
adipose, and endogenously synthesized fatty acids in the
pathogenesis of the alcoholic fatty liver
J. Clin. Invest. 1966, 45, 1400
24. LIEBER, C. S.
Metabolic derangement induced by alcohol
Ann. Rev. Med. 18, 35, 1967

25. MALLOV, S.
Effect of adrenalectomy on ethanol and fat metabolism
in the rat
Amer. J. Physiol. 1957, 189, 428
26. MALLOV, S.
Effect of ethanol intoxication on plasma free fatty acids
in the rat.
Quart J. stud Alkohol 22, 250 - 253 (1961)
27. MALING, H. M., Horning, M. G., Butler, W. M., Jr.,
Higman, B., Brodie, B. B.
Triglyceride deposition in rat liver through derangement
of fat transport by various chemical agents
Fed Proc. 1960, 19, 229
28. OETTE, K.
Experimentelle Untersuchungen an menschlichen Leberpunktaten
und an der Rattenleber zum Stoffwechsel von Fettsäuren mit
unterschiedlicher Kettenlänge und unterschiedlicher Zahl von
Doppelbindungen
Res. exp. Med. 162, 185 (1974)
29. OETTE, K., Fischel, P., Philopen, R.
Untersuchungen an menschlichen Leberpunktaten zum Äthanol-
und Fettsäurestoffwechsel.
In Alkohol und Leber. Herausg. von W. Gerok, K. Sickingher
und H. H. Hennekeuser
Stuttgart-New York, Schattauer (1971)
30. PERMAN, E. S.
The effect of ethyl alcohol on the secretion from the
adrenal medulla in man
Acta physiol. scand. 44, 241 (1958)
31. REBOUCAS, G., Isselbacher, K. J.
Studies on the pathogenesis of the ethanol induced fatty liver.
1. Synthesis and oxidation of fatty acids by the liver
J. Clin. Invest. 1961, 40, 1355

32. SACKS, L.
Statistische Auswertungsmethoden
Springer Verlag Berlin (1969) S. 309 - 311
33. SHAPIRO, R. H., Scheig, R. L., Drummey, G. D., Mendelson, J. H.,
Isselbacher, K. J.
Effect of prolonged ethanol ingestion on the transport and
metabolism of lipids in man
New Engl. J. Med. 272, 610, 1965
34. SCHUBOTZ, R.
Verhalten der Triglycerid-Fettsäuren bei fastenden und isoka-
lorisch ernährten Versuchspersonen unter akuter Äthanolbe-
lastung. Einfluß der Lipolysehemmung durch Nikotinsäure und
Glucose.
Res. exp. Med. 167, 139 - 148 (1976)
35. STAHL, E.
Dünnschicht-Chromatographie
Ein Laboratoriumshandbuch - Springer-Verlag Berlin 1967
36. ULLMANNs Encyklopädie der technischen Chemie
3. Auflage, Band 7, Verlag Urban und Schwarzenberg, Berlin
37. WEBER, E.
Grundriß der biol. Statistik
5. Auflage VEB Gustav Fischer Verlag
Jena 1964, S. 136
38. WINER, B. J.
Statistical Principles in Experimental Design
Ljubljana 1970, S. 105 - 114
39. WOODFORD, F. P., van Gent, C. M.
Gas-Liquid chromatography of fatty acid methyl esters:
the "Carbonnumber" as a parameter for comparison of columns.
J. Lipid Res. 1, 188 (1960)

Danksagung:

Herrn Prof. Dr. H. Kaffarnik danke ich für die Überlassung eines Arbeitsplatzes im Labor der alten Medizinischen Poliklinik Marburg/Lahn.

Für die Überlassung des Themas und zahlreiche nützliche Hinweise und Hilfsbereitschaft sowohl beim experimentellen Teil als auch bei der Abfassung der Arbeit und für die Übernahme des Hauptreferates bin ich Herrn Priv. Doz. Dr. med. R. Schubotz sehr dankbar.

Herrn Prof. Dr. med. H. Kaffarnik gilt mein Dank für die Übernahme des Correferates.

Schließlich sei den med. techn. Angestellten Frau A. Mahler und Frau E. Schülle für ihre Hilfe bei der Einarbeitung im Labor gedankt.

Lebenslauf

Am 30. April 1947 wurde ich als Sohn des Oberingenieurs Hugo Echterhoff und seiner Ehefrau Lucie, geb. Kombrink in Bielefeld geboren.

Nach dem Besuch der Bosse-Realschule in Bielefeld absolvierte ich von April 1964 bis September 1966 eine praktische Lehre als Zimmerer mit dem Abschluß der Fachschulreife bei der Fa. Brinkmann in Bielefeld.

Im Anschluß daran verpflichtete ich mich für die Zeitdauer von zwei Jahren bei der Bundeswehr und wurde im Januar 1969 als Leutnant der Reserve entlassen.

Von Januar 1969 bis März 1971 besuchte ich das private Abendgymnasium Flaskämper in Bielefeld und bestand im März 1971 das Externe Abitur am Otto-Hahn-Gymnasium in Herne.

Das Studium der Medizin begann ich zum Sommersemester 1972 an der Philipps-Universität in Marburg/Lahn, an der ich im März 1973 die naturwissenschaftliche Vorprüfung und im September 1974 die ärztliche Vorprüfung ablegte. Dann folgten der 1. Abschnitt der ärztlichen Prüfung im August 1975, der 2. Abschnitt im August 1977.

Den 3. Abschnitt der ärztlichen Prüfung werde ich im Oktober 1978 in Marburg ablegen.

Meine akademischen Lehrer waren die Herren Professoren
und Dozenten:

Amon, Aziz, Bichler, Bode, Braasch, Buchholz, Castenholz,
Daume, Dennhardt, Dittrich, Dombrowsky, Doss, Egbrink,
Eißner, Exner, Eschenbach, Friederich, Fruhstorfer, Ganz,
Geissler, Gerdes, Golenhofen, Graul, Haberich, Habermehl,
Hardewig, Hamelmann, Havemann, Heene, Hensel, Hess, Hilde-
brandt, Himmelmann, Huch, Ihm, Jakob, Kaffarnik, Kalb-
fleisch, Karlson, Kipp, Klein, Kleinsasser, Knauff,
Koransky, Lange, Lehmann, Lorenz-Meyer, Ludwig, Lütke,
Maroske, Martini, Massarrat, Neurath, Ohmig, Oepen, Petry,
Pohlen, Portig, Pots, Priebe, Riecken, Rodeck, Rohde,
Rohen, Schachtschabel, Schaumlöffel, Scheele, Schmitz-
Moormann, Schubotz, Schneider, Schulte-Hermann, Seifart,
Sekeris, Siegert, Sodomann, Stuke, Straub, Thoenes, Wal-
cher, Welge-Lüssen, Wendt, Wesemann, Wiegandt, Willenbo-
ckel.

